

【総説】

ショウジョウバエの環境適応を支える栄養応答性ホルモン

佐野 浩子

久留米大学 分子生命科学研究所 遺伝情報研究部門

要約

昆虫は外界の栄養状態を反映する柔軟な体サイズ調節機構を持つことにより、栄養環境の変化に適応している。体サイズの調節においては、哺乳類と同様に、インスリンシグナルが中心的な役割を果たす。ショウジョウバエのインスリンは複数存在し、インスリン様ペプチドと総称されている。これらのうち、成長に重要な役割を持つインスリン様ペプチドは、脳のインスリン産生細胞から分泌される。脳からのインスリン様ペプチドの合成や分泌には、脂肪組織をはじめとする末梢組織から分泌される、栄養応答性インスリン制御因子が重要な役割を果たすことが明らかになってきた。また、インスリン産生細胞は、栄養素に加え、温度や酸素状態の入力を受けることが明らかになってきた。このような環境依存的なインスリン制御因子の作用機構およびそれらの情報統合の仕組みを明らかにすることにより、個体がどのようにして環境を読み取り、適応しているのかが明らかになると期待される。

キーワード：Nutrient-responsive hormone, *Drosophila*, growth, insulin-like peptide

1. はじめに

地球上の生物のうち、半分以上は昆虫である。昆虫の生息域は広く、ヒトが生存できないような過酷な環境にも適応し、四季のような激しい環境変動の中でもライフサイクルを回すことができる。昆虫の驚異的な適応は、卓越した環境感知に支えられている。栄養は最も重要な環境要因の1つであり、栄養状態に応じて体サイズを調節することは昆虫に広く見られる現象である。また、カイコのように、子孫が食物の豊富な時期に成長期（幼虫期）を過ごすために、訪れる季節を予測して、すぐに発生を開始する卵と休眠卵を産み分ける種も存在する。このような昆虫の環境適応に重要な役割を担うのが、内分泌系である。内分泌系はペプチドやアミン、ステロイドなどを担い手として、体液を介した情報伝達を行う。内分泌系による情報伝達は、複数の分子を様々な臓器から分泌することにより、多様な効果を発揮する。

昆虫の内分泌研究は、組織の除去や移植、結紮などが可能な大型昆虫を用いて始められ、変態ホルモンの精製に代表される成果を上げてきた。これに対し、代表的な昆虫モデル生物であるショウジョウバエは、体サイズが小さいため、内分泌研究には不向きとされてきた。しかし、2000年に全ゲノム配列が解読されると、ゲノム配列からホルモン受容体（多くはGタンパク質共役型受容体：GPCR）が予測できるようになり、リガンドの探索が可能となった^[1]。このような進歩に、優れた遺伝学を組み合わせることにより、ショウジョウバエの内分泌研究は近年急速に発展している。本稿では、栄養環境に応じた体サイズ調節に焦点を当て、ショウジョウバエを用いて得られた知見を紹介する。

2. ショウジョウバエの体サイズ調節

ショウジョウバエの体サイズは、成長速度と成長期間によって決定され、成長速度の調節にはインスリンシグナルが重要な役割を果たす。インスリン受容体（*InR*）やインスリン受容体基質（*chico*）を欠損した変異体では、細胞数および細胞のサイズが減少し、体サイズが半分程度まで小さくなる^[2, 3]。インスリン様ペプチド（*Drosophila* insulin-like peptide: *Dilp*）は、8種類同定されている^[3, 5]。*Dilp1-5* および *7* はヒトのインスリンと

連絡先：佐野 浩子

〒830-0011 福岡県久留米市旭町 67 番地

TEL：0942-37-6313

FAX：0942-27-7331

E-mail：sano_hiroko@kurume-u.ac.jp

良く似た構造を持つのに対し、Dilp6 はヒトのインスリン様成長因子（IGF）と類似した構造を持つ^[3]。Dilp8 はインスリン /IGF よりもリラキシンファミリーペプチドに近い構造を持ち、InR ではなく Lgr3 と呼ばれる GPCR に作用する^[5]。Dilp はそれぞれ異なる組織やステージで発現しており、単一の受容体を介したインスリンシグナルに多様性を付与している。ショウジョウバエの成長期に当たる幼虫期においては、Dilp2、Dilp3 および Dilp5 が脳のインスリン産生細胞で発現している^[3, 4]。インスリン産生細胞は、脳の前端部に一對の細胞塊として存在する神経内分泌細胞である。インスリン産生細胞を除去した個体では、血糖値の上昇や体サイズの減少が見られることから、インスリン産生細胞から分泌される Dilp は、哺乳類のインスリンとインスリン様成長因子の機能を併せ持つと考えられている^[6]。

体サイズ調節に重要な役割を持つインスリンシグナルの合成や分泌は、栄養状態の影響を受けることが知られている。幼虫を飢餓状態に置くと、インスリン産生細胞における *dilp3* および *dilp5* mRNA の量が減少する^[4]。*dilp2* mRNA の発現は飢餓の影響を受けないが、Dilp2 の蓄積すなわち分泌の低下が起こる^[4, 7]。これらの結果から、インスリンの産生や分泌が個体の栄養条件によって変化することが明らかにされた。

一方、昆虫の成長はほぼ幼虫の摂食期に限定されるため、体サイズは幼虫期の長さにも影響を受ける（図1）。昆虫には臨界重量（critical weight; CW）と呼ばれる成長のチェックポイントが存在することが知られている^[8]。臨界重量に達すると脱皮・変態ホルモンであるエクジソンの合成が活性化され、蛹期への移行が運命づけられる。その後、最終成長期間（terminal growth period; TGP）と呼ばれる一定の成長期間を経て、成長を停止

する。エクジソンは前胸腺とよばれる組織で合成されるが、前胸腺はインスリンに対する感受性が高く、インスリンによりエクジソン合成が促進される^[9-11]。貧栄養条件では、インスリン分泌の低下により、成長速度が低下するとともに、エクジソンの分泌が刺激されないため脱皮・変態のタイミングが遅れ、結果として幼虫の摂食期間が長くなる。このようなインスリンによるエクジソン合成の調節は、栄養状態に合わせて成長速度を低下させる一方で成長期間を延長することにより、生存に必要な体サイズを維持する巧みな仕組みと言える。

3. 栄養応答性ホルモンによるインスリン制御

哺乳類では、血中グルコース濃度の上昇を膵臓のベータ細胞が直接感知してインスリンを分泌する^[12]。この過程に必要な ATP 依存性カリウムチャネルをコードする遺伝子は、ショウジョウバエ幼虫のインスリン産生細胞では検出されず、インスリン産生細胞が直接糖を感知するという報告はない^[13]。一方、アミノ酸はインスリン産生細胞に直接感知され、Dilp2 の分泌を促進することが報告されている^[7]。しかし、近年、末梢組織で感知された栄養レベルに従って分泌されるインスリン制御因子が多数同定され、インスリン産生細胞による直接的な栄養感知よりも、末梢組織由来のインスリン制御因子が栄養条件に応じたインスリンの産生・分泌に重要な役割を持つことが明らかになってきた。このようなインスリンの遠隔操作に重要な役割を持つのが、脂肪体と呼ばれる組織である。脂肪体は1層の細胞層から成るシート状の組織であり、哺乳類の脂肪組織と肝臓に相当すると考えられている。哺乳類の脂肪組織は、脂肪蓄積と内分泌器官としての役割を併せ持ち、アディポサイトカインと総称されるホルモンを分泌することにより、代謝や摂食

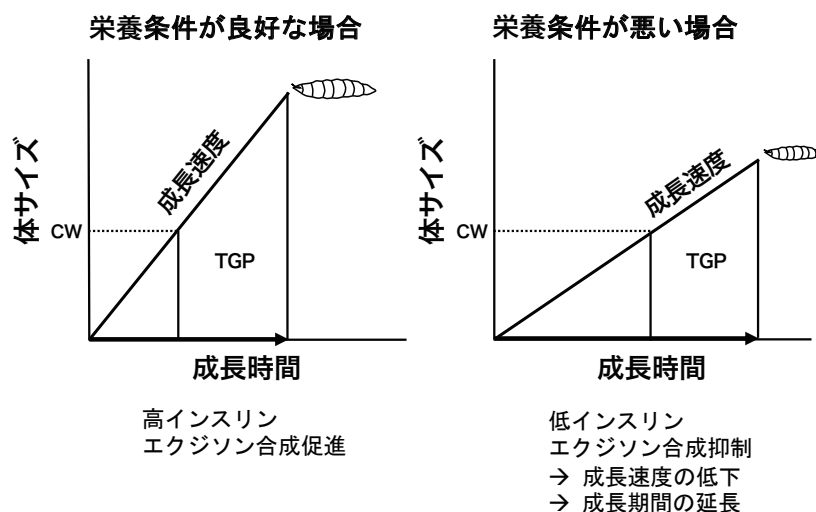


図1：体サイズを決定するメカニズム

ショウジョウバエの体サイズは成長速度と成長期間によって決定される。臨界重量（CW）に達するとエクジソンの合成が活性化され、蛹期への移行が運命づけられる。そして、最終成長期間（TGP）と呼ばれる一定の成長期間を経て、成長を停止する。栄養条件が良好な場合、短時間で最適なサイズに成長する。貧栄養条件では、インスリンの分泌が低下して成長速度が低下する一方で、脱皮・変態ホルモンであるエクジソンの分泌が刺激されないため、幼虫の摂食期間が長くなる。この仕組みにより、生存に必要な体サイズが維持される。

行動を制御する^[14]。ショウジョウバエにおいても、脂肪体の栄養状態を遺伝的手法や培養条件の操作により変化させると、インスリン産生細胞におけるインスリン分泌が変化することが明らかにされ、ショウジョウバエの脂肪体は哺乳類の脂肪組織と同様に内分泌機能を持つことが明らかになった^[7]。この発見を契機として、脂肪体から分泌されるインスリン制御因子の探索が始まり、様々な栄養素に反応して分泌されるインスリン制御因子が同定された(図2)。

筆者らは、脂肪体および腸管で合成・分泌されるインスリン制御因子を同定した^[15, 16]。哺乳類では、GPCRとそのリガンドである短鎖ペプチドがホルモン機能の多くを担うことが知られている。そこで、ショウジョウバエゲノムからリガンド不明のGPCRを選択し、組織から抽出したペプチドから、GPCRを活性化するものを探索した。このようなアプローチにより、GPCRをコードするCG14593のリガンドとしてCCHamide-2 (CCHa2)を同定した^[15]。CCHa2は13アミノ酸から成る短鎖ポリペプチドであり、分子内にシステインによる架橋が入る。ペプチドのC末端はアミド化されているが、これは、昆虫のペプチドホルモンの多くに共通する特徴である。CCHa2は昆虫種で良く保存されており、昆虫綱以外では配列の類似した分子は見つかっていない。筆者らは、CCHa2によって活性化されるGPCRを、CCHa2受容体(CCHa2-R)と名付けた。

CCHa2 mRNAはアイソフォームによって異なる発現パターンを示すが、脂肪体で最も強く発現し、腸管や脳でも発現する^[16-18]。CCHa2の発現はグルコース摂取によって誘導されること、CCHa2-Rは脳のインスリン産生細胞で発現することから、CCHa2/CCHa2-Rは末梢器官と脳をつなぐ糖応答性シグナル経路を形成することが

明らかになった^[16]。幼虫脳の培養系にCCHa2を投与すると、インスリン産生細胞の活性化が見られることから、CCHa2はCCHa2-Rを介してインスリン産生細胞を直接刺激と考えられる。ショウジョウバエの脳は、セプテートジャンクションと呼ばれる細胞間結合によって連結したグリア細胞で覆われており、脳内への体液の流入を防ぐ脳血流関門の役割を果たしている^[19]。脂肪体から放出されたCCHa2がこの脳血流関門をどのようにして通過するのかは未だ不明であり、今後の解析が期待される。

CCHa2/CCHa2-Rの変異体作製による機能解析から、CCHa2/CCHa2-RはDilp2の分泌、Dilp5の発現および分泌を制御することが明らかになった。CCHa2変異体およびCCHa2-R変異体では、幼虫期の体サイズが顕著に低下する。つまり、CCHa2/CCHa2-Rは、Dilp2およびDilp5を介して、個体の成長を糖の摂取状況に合わせて調節する役割を持つと考えられる。末梢器官と脳を結ぶ内分泌シグナルによる代謝・成長制御はおもに哺乳類で明らかにされてきたが、進化的に隔たった昆虫においても重要な役割を担うことが明らかになり、普遍的メカニズムであることが示唆された。

CCHa2/CCHa2-RによるDilp2およびDilp5の制御機構については、いくつかの可能性はある。CCHa2は細胞内カルシウム濃度の上昇を指標として同定されたGPCRであることから、おそらくGq結合型であると考えられる。Gq結合型受容体にリガンドが結合すると、小胞体からカルシウムイオンが放出される。CCHa2のCCHa2-Rへの結合により、細胞内カルシウム濃度の上昇が起こり、哺乳類ベータ細胞におけるインスリン分泌と同様に、分泌顆粒の膜への融合を促進しているのかもしれない。dilp5の発現制御機構については詳細な

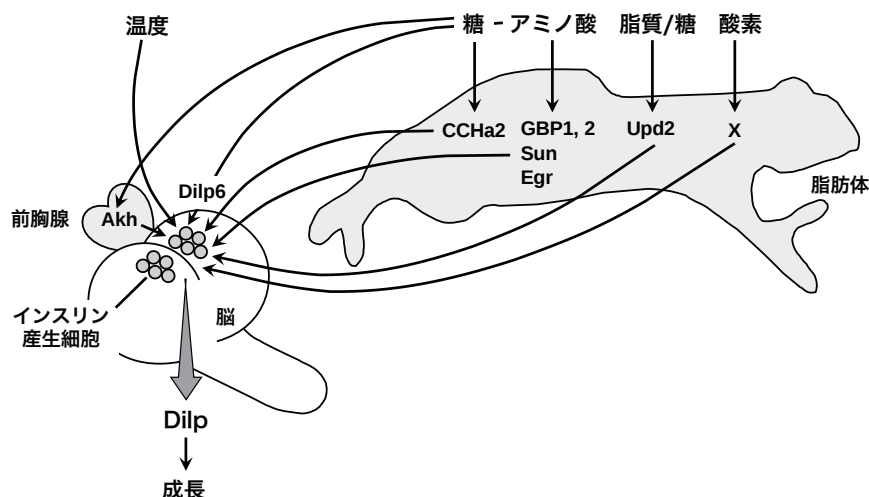


図2：インスリン産生細胞における環境刺激の入力

ショウジョウバエ脂肪体は、栄養素や酸素状態を感知して様々なインスリン制御因子を分泌する。体液中に放出されたインスリン制御因子は、脳のインスリン産生細胞で受容され、インスリン様ペプチド(Dilp)の発現や分泌を制御する。脂肪体の他、前胸腺や脳を取り囲むグリア細胞も栄養依存的にインスリン制御因子を分泌する。温度は温度感受性神経細胞を介してインスリン産生細胞に伝達される。インスリン産生細胞は、これらの情報を統合してDilpを分泌し、置かれた環境に合わせて成長を調節する。

解析が行われている。*dilp5* の発現は、Eyless および Dachshund と呼ばれる転写因子により活性化される^[20]。Eyless および Dachshund の発現自体は栄養条件に依存しないが、飢餓時に Foxo 転写因子が脱リン酸化されて核内に入り、Eyless と結合する。この結合が Eyless-Dachshund 複合体の形成を阻害するために、飢餓時における *dilp5* の発現が低下する。CCHa2/CCHa2-R シグナルは *dilp5* の発現を制御するこれらの転写因子を制御する可能性が考えられる。

糖の摂取に応じて脂肪体から分泌されるインスリン制御因子としては、Unpaired-2 (Upd2) が同定されている^[21]。Upd2 の発現は、少なくとも成虫では、糖および脂質の摂取により上昇する。アミノ酸応答性のインスリン制御因子としては、Growth blocking peptide 1, 2 (GBP1, 2)、Stunted (Sun)、TNF α シグナルをコードする Eiger (Egr) が同定されている。GBP1, 2 および Sun は高タンパク質条件で脂肪体から分泌され、脳における Dilp2, 5 の分泌を促進するのに対し^[22, 23]、Egr は低タンパク質条件で脂肪体から分泌され、Dilp2, 5 の合成を抑制する^[24]。これらのインスリン制御因子は、インスリン産生細胞で直接受容されるものと、インスリン産生細胞に投射する神経細胞で受容されて間接的に作用するものに分けられる。Sun および Egr は前者であり、GBP1, 2 および Upd2 は後者である。GBP1, 2 は、インスリン産生細胞に投射する神経細胞のはたらきを EGFR シグナルを介して抑えることにより、インスリン産生細胞の抑制を解除する^[25]。Upd2 は成虫での作用機構しか分かっていないが、インスリン産生細胞に投射する神経細胞のはたらきを JAK/STAT シグナルを介して抑えることにより、インスリン産生細胞の抑制を解除する^[21]。

これまで、脂肪体由来の因子について述べてきたが、数は少ないものの、脂肪体以外の組織も栄養応答性インスリン制御因子を分泌する。その1つは ring gland と呼ばれる脳に付属した内分泌器官である。Ring gland は、糖を感知して Adipokinetic hormone (AKH) を分泌する。AKH は脳のインスリン産生細胞で受容されて Dilp3 の分泌を促進する^[26]。この他、脳を覆って脳血流関門として機能しているグリア細胞は、アミノ酸や糖を感知して Dilp6 を脳内に分泌する^[27]。Dilp6 は脳のコリン作動性神経細胞に作用して Anaplastic lymphoma kinase (ALK) シグナルを介してインスリン産生細胞での *dilp5* の発現を促進する。

4. インスリン産生細胞への様々な入力

インスリン産生細胞には栄養以外の環境刺激も入力することが報告されている。その1つは温度である。低温条件で活性化する神経細胞がインスリン産生細胞に投射しており、Dilp の発現および分泌を促進することが報告されている^[28]。ショウジョウバエは低温条件で体サイズが大きくなることが知られていたが、この現象を裏付ける知見である。また、最近、低酸素条件が Dilp の発現および分泌に影響を及ぼすことが明らかに

された^[29]。低酸素条件は、脂肪体において、進化的に保存された低酸素誘導因子 (hypoxia-inducible factor-1 α : HIF-1 α) を介して感知され、脳における Dilp の発現および分泌を抑制し、体サイズを減少させる。これらの結果から、おそらく、HIF-1 α 依存的に脂肪体で合成されてインスリン産生細胞の機能を制御する、未同定の分泌性因子が存在すると考えられる。

5. おわりに

ショウジョウバエをモデルとした解析により、インスリン産生細胞には環境刺激を伝達する数多くの入力があることが明らかになった。生存に影響を及ぼす環境要因は、栄養のほか、温度、酸素、水分など複数存在するが、それらは動物にとって等価ではない。例えば、ショウジョウバエ幼虫の成長に対しては、糖よりもアミノ酸の方が効率の良い栄養素であることが報告されている^[30]。それならば、アミノ酸による刺激は糖による刺激よりも重み付けされるのが自然であり、置かれた状況によって重み付けは異なる可能性もある。これらを統合して、個体の生存に最適となるようなインスリンの合成・分泌として出力する必要がある。また、本稿で述べたように、それぞれの環境刺激に応じてホルモンが分泌されるだけでなく、同一の環境刺激に応じて複数のホルモンが分泌される場合もある。ホルモンシグナルの伝達経路も、直接的なインスリン産生細胞への作用だけでなく、神経を介した間接的なものがあることが分かってきた。このような多様なシグナルをどのように統合し、どのように情報の重み付けを行っているのかを明らかにすることが環境適応を理解するために重要であり、今後の研究の進展が期待される。

【参考文献】

1. Adams MD and Celniker SE and Holt RA, et al. The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. Science 287: 2185-2195, 2000.
2. Bohni R, Riesgo-Escovar J, Oldham S, et al. Autonomous control of cell and organ size by CHICO, a *Drosophila* homolog of vertebrate IRS1-4. Cell 97: 865-875, 1999.
3. Brogiolo W, Stocker H, Ikeya T, et al. An evolutionarily conserved function of the *Drosophila* insulin receptor and insulin-like peptides in growth control. Curr Biol 11: 213-221, 2001.
4. Ikeya T, Galic M, Belawat P, et al. Nutrient-dependent expression of insulin-like peptides from neuroendocrine cells in the CNS contributes to growth regulation in *Drosophila*. Curr Biol 12: 1293-1300, 2002.
5. Garelli A, Gontijo AM, Miguela V, et al. Imaginal discs secrete insulin-like peptide 8 to mediate plasticity of growth and maturation. Science 336: 579-582, 2012.

6. Rulifson EJ, Kim SK, and Nusse R. Ablation of insulin-producing neurons in flies: growth and diabetic phenotypes. *Science* 296: 1118-1120, 2002.
7. Geminard C, Rulifson EJ, and Leopold P. Remote control of insulin secretion by fat cells in *Drosophila*. *Cell Metab* 10: 199-207, 2009.
8. Mirth CK and Riddiford LM. Size assessment and growth control: how adult size is determined in insects. *Bioessays* 29: 344-355, 2007.
9. Caldwell PE, Walkiewicz M, and Stern M. Ras activity in the *Drosophila* prothoracic gland regulates body size and developmental rate via ecdysone release. *Curr Biol* 15: 1785-1795, 2005.
10. Colombani J, Bianchini L, Layalle S, et al. Antagonistic actions of ecdysone and insulins determine final size in *Drosophila*. *Science* 310: 667-670, 2005.
11. Mirth C, Truman JW, and Riddiford LM. The role of the prothoracic gland in determining critical weight for metamorphosis in *Drosophila melanogaster*. *Curr Biol* 15: 1796-1807, 2005.
12. Seino S and Miki T. Physiological and pathophysiological roles of ATP-sensitive K⁺ channels. *Prog Biophys Mol Biol* 81: 133-176, 2003.
13. Kim SK and Rulifson EJ. Conserved mechanisms of glucose sensing and regulation by *Drosophila* corpora cardiaca cells. *Nature* 431: 316-320, 2004.
14. Fasshauer M and Bluher M. Adipokines in health and disease. *Trends Pharmacol Sci* 36: 461-470, 2015.
15. Ida T, Takahashi T, Tominaga H, et al. Isolation of the bioactive peptides CCHamide-1 and CCHamide-2 from *Drosophila* and their putative role in appetite regulation as ligands for G protein-coupled receptors. *Front Endocrinol (Lausanne)* 3: 177, 2012.
16. Sano H, Nakamura A, Texada MJ, et al. The Nutrient-Responsive Hormone CCHamide-2 Controls Growth by Regulating Insulin-like Peptides in the Brain of *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genet* 11: e1005209, 2015.
17. Ren GR, Hauser F, Rewitz KF, et al. CCHamide-2 Is an Orexigenic Brain-Gut Peptide in *Drosophila*. *PLoS One* 10: e0133017, 2015.
18. Chintapalli VRW, J.; Herzyk, P.; Dow, J.A.T. FlyAtlas: survey of adult and larval expression. Personal communication to FlyBase: <http://www.flyatlas.org/>, 2010.
19. Daneman R and Barres BA. The blood-brain barrier-lessons from moody flies. *Cell* 123: 9-12, 2005.
20. Okamoto N, Nishimori Y, and Nishimura T. Conserved role for the Dachshund protein with *Drosophila* Pax6 homolog Eyeless in insulin expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 2406-2411, 2012.
21. Rajan A and Perrimon N. *Drosophila* cytokine unpaired 2 regulates physiological homeostasis by remotely controlling insulin secretion. *Cell* 151: 123-137, 2012.
22. Koyama T and Mirth CK. Growth-Blocking Peptides As Nutrition-Sensitive Signals for Insulin Secretion and Body Size Regulation. *PLoS Biol* 14: e1002392, 2016.
23. Delanoue R, Meschi E, Agrawal N, et al. *Drosophila* insulin release is triggered by adipose Stunted ligand to brain Methuselah receptor. *Science* 353: 1553-1556, 2016.
24. Agrawal N, Delanoue R, Mauri A, et al. The *Drosophila* TNF Eiger Is an Adipokine that Acts on Insulin-Producing Cells to Mediate Nutrient Response. *Cell Metab* 23: 675-684, 2016.
25. Meschi E, Leopold P, and Delanoue R. An EGF-Responsive Neural Circuit Couples Insulin Secretion with Nutrition in *Drosophila*. *Dev Cell* 48: 76-86 e75, 2019.
26. Kim J and Neufeld TP. Dietary sugar promotes systemic TOR activation in *Drosophila* through AKH-dependent selective secretion of Dilp3. *Nat Commun* 6: 6846, 2015.
27. Okamoto N and Nishimura T. Signaling from Glia and Cholinergic Neurons Controls Nutrient-Dependent Production of an Insulin-like Peptide for *Drosophila* Body Growth. *Dev Cell* 35: 295-310, 2015.
28. Li Q and Gong Z. Cold-sensing regulates *Drosophila* growth through insulin-producing cells. *Nat Commun* 6: 10083, 2015.
29. Texada MJ, Jorgensen AF, Christensen CF, et al. A fat-tissue sensor couples growth to oxygen availability by remotely controlling insulin secretion. *Nat Commun* 10: 1955, 2019.
30. Havula E, Teesalu M, Hyotylainen T, et al. Mondo/ChREBP-Mlx-regulated transcriptional network is essential for dietary sugar tolerance in *Drosophila*. *PLoS Genet* 9: e1003438, 2013.

The roles of nutrient-responsive hormones in environmental adaptation of *Drosophila melanogaster*

Hiroko Sano

Department of Molecular Genetics, Institute of Life Science, Kurume University

Abstract

Insects have flexible mechanisms for body size regulation that reflects the nutritional status, which enables them to adapt to changes in their environment. In *Drosophila*, body size is regulated by insulin signaling, as in mammals. There are multiple *Drosophila* insulins, which are called *Drosophila* insulin-like peptides (Dilps). Among those, Dilps that play major roles in growth control are secreted from insulin-producing cells in the brain. The production and secretion of Dilps in the brain are controlled by nutrient-responsive insulin regulators, which are secreted from peripheral tissues, such as the fat body, in response to specific nutrients. Additionally, temperature and oxygen conditions affect the secretion of Dilps, suggesting that various environmental inputs are transmitted to insulin-producing cells. Further study on the action and integration mechanisms of these environment-responsive insulin regulators will help to clarify the mechanisms by which insects adapt to their environment.

Keywords : Nutrient-responsive hormone, *Drosophila*, growth, insulin-like peptide